

Immunological analysis system for a specific combination reaction - contains extractors for specimen and reaction vessels on single rotor with washing and pipette stations on circumference

Patent number: DE4128698
Publication date: 1993-03-04
Inventor: MUELLER HANS-JUERGEN DIPL PHYS (DE);
STROHMEIER WERNER DIPL PHYS DR (DE)
Applicant: BOEHRINGER MANNHEIM GMBH (DE)
Classification:
- **International:** G01N33/53; G01N35/02
- **European:** G01N35/10
Application number: DE19914128698 19910829
Priority number(s): DE19914128698 19910829

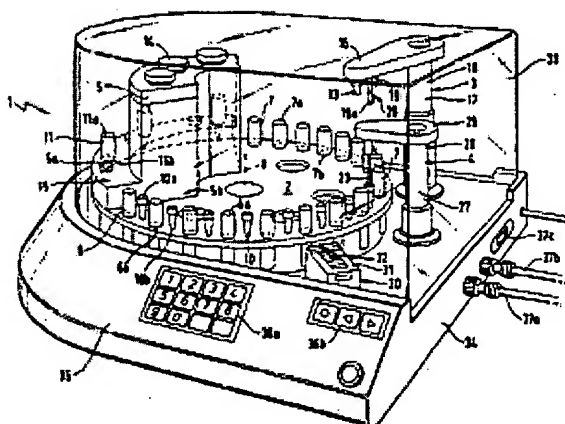
Abstract of DE4128698

The analysis system contains specimen vessels (6), reaction vessels (5,7) contg. carrier fixed combination partners and with liquid input or output openings and a measurement station (30) for characteristic parameters.

Extractors (5b,6b,7b) for the specimen and reaction vessels are mounted on a single rotor (2) with washing and pipette stations on its circumference (3,4).

The elements are arranged so that the pipette station connecting tube can automatically connect to a pipette tip and the liquid transfer openings can be moved beneath the connected pipette tip.

USE/ADVANTAGE - For automatic immunological analysis involving carrier fixed combination partners in reaction vessel and washing step for bound-free separation .



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide



19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 Offenlegungsschrift
10 DE 41 28 698 A 1

51 Int. Cl.⁵:
G 01 N 35/02
G 01 N 33/53

21 Aktenzeichen: P 41 28 698.7
22 Anmeldetag: 29. 8. 91
43 Offenlegungstag: 4. 3. 93

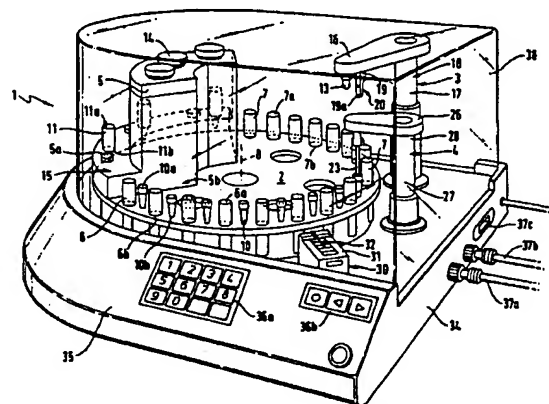
DE 41 28 698 A 1

71 Anmelder:
Boehringer Mannheim GmbH, 6800 Mannheim, DE
74 Vertreter:
Pfeifer, H., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 7500
Karlsruhe

72 Erfinder:
Strohmeier, Werner, Dipl.-Phys. Dr., 8120 Weilheim,
DE; Müller, Hans-Jürgen, Dipl.-Phys. Dr., 8139
Bernried, DE

54 Analysesystem

57 Analysesystem zur automatischen Durchführung von heterogenen immunologischen Analysen, die einen Waschschritt zur Durchführung einer Bound-Free-Trennung einschließen.
Das System ermöglicht die vollautomatische und selektive Durchführung solcher Reaktionen mit einem sehr einfachen Aufbau. Probengefäße (6), Reagenzgefäße (5) und Reaktionsgefäße (7), die einen trägerfixierten immunologischen Bindungspartner enthalten, befinden sich in entsprechenden Aufnahmen (5b, 6b, 7b) auf einem einzigen Rotor. Am Umfang des Rotors ist eine Waschstation (4) und eine Pipettierstation (3) angeordnet, die jeweils (nur) eine Vertikalbewegung ermöglichen, um eine Waschnadel (23) bzw. ein Pipettenspitzenanschlußrohr (13) auf den Kreis der Transferöffnungen der Gefäße (6, 5, 7) abzusenken. Weiter sind auf dem gleichen Kreis des Rotors (2) Aufnahmen (10b, 11b) für Pipettenspitzen (10, 11) vorgesehen, die an das Pipettenspitzenanschlußrohr (13) automatisch angeschlossen und von diesem abgenommen werden können.



DE 41 28 698 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Analysesystem zur automatischen Durchführung von Analysen, die eine spezifische Bindungsreaktion unter Beteiligung eines in einem Reaktionsgefäß trägerfixierten Bindungspartners und einen Waschschriff zur Durchführung einer Bound-Free-Trennung umfassen.

Immunologische Bestimmungen haben in der medizinischen Analytik eine große Bedeutung. Sie basieren auf der hochspezifischen Bindungsreaktion zwischen immunologischen Bindungspartnern, beispielsweise einem Antigen und dementsprechenden Antikörper und sind außerordentlich selektiv und empfindlich. Gelegentlich werden auch andere spezifische bioaffine Wechselwirkungen verwendet, wie Lektin-Zucker, eine Wirkstoff-Rezeptorwechselwirkung und die spezifische Bindung zwischen Biotin und Streptavidin. Im folgenden wird ohne Beschränkung der Allgemeinheit auf immunologische Bindungsreaktionen stellvertretend auch für die anderen spezifischen bioaffinen Wechselwirkungen Bezug genommen.

Gemeinsam ist allen derartigen Verfahren, daß die Analysereaktion schließlich zu einer physikalisch nachweisbaren Veränderung einer für die Analyse charakteristischen Meßgröße führt. Verschiedene immunologische Analyseverfahren unterscheiden sich hinsichtlich dieser Meßgröße. In den meisten Fällen führt die Reaktion zu einer Farbänderung der Lösung, welche photometrisch nachgewiesen wird. Daneben sind jedoch auch andere Meßgrößen (beispielsweise Fluoreszenz, Lumineszenz und elektrische Spannungen oder Ströme) vorgeschlagen worden und teilweise in praktischem Gebrauch.

Heterogene immunologische Analyseverfahren erfordern sehr häufig eine Trennung zwischen einem gebundenen und einem freien Reaktionsbestandteil. Diese Trennung ("Bound-Free-Trennung") wird meist dadurch bewirkt, daß ein Bindungspartner in einem Reaktionsgefäß trägerfixiert ist, wobei der Träger entweder die Wand des Reaktionsgefäßes selbst (sogenannte "coated tubes") ist oder Kugeln aus einem inerten Kunststoff als Träger verwendet werden, die sich in dem Reaktionsgefäß befinden. Die Bound-Free-Trennung erfordert ein intensives Waschen des Trägers, um sicherzustellen, daß der freie Reaktionspartner vollständig von dem Träger entfernt ist. Ein anderes Charakteristikum heterogener immunologischer Tests sind lange Inkubationszeiten, die durch die Festphasen-Reaktion verursacht werden. Außerdem sind in der Regel zwei zeitlich getrennte Reaktionsstufen mit jeweils spezifisch definierter Reaktionszeit erforderlich.

Geräte zur Durchführung heterogener immunologischer Analysen müssen erheblich schwierigere Anforderungen als konventionelle Analysegeräte erfüllen. Dies gilt insbesondere, wenn mehrere Analyten (Testparameter) parallel bestimmt werden sollen. Für jeden Parameter müssen die Proben und die für die unterschiedlichen Verfahrensstufen erforderlichen flüssigen Reagenzien jeweils derartig zeitlich koordiniert in die Reaktionsgefäße transferiert werden, daß die jeweiligen Inkubationszeiten eingehalten werden. Auch die Messung der jeweiligen Meßgröße am Ende der Analyse muß zeitlich koordiniert erfolgen.

Da die manuelle Durchführung immunologischer Tests schwierig und zeitaufwendig ist, wurden bereits eine Vielzahl von Analysesystemen zur automatischen Durchführung solcher Analysen vorgeschlagen. Solche

Systeme bestehen üblicherweise aus Analysegeräten in Verbindung mit passenden Trägern (z. B. coated tubes) für den trägerfixierten Bindungspartner und weiteren für die Reaktion erforderlichen Reagenzien und/oder Hilfsmitteln.

Um den genannten Anforderungen zu genügen, haben die Analysegeräte zur Durchführung heterogener immunologischer Analysen eine technisch aufwendige Konstruktion. Insbesondere benötigen sie ein leistungsfähiges "liquidhandling-System" zum Transferieren (Zuführen und/oder Absaugen) der jeweils für die Reaktion erforderlichen Flüssigkeiten. Es weist im allgemeinen einen Dilutor mit Mehrweg-Ventil und mehrere Dosier-Absaug-Rohre auf, die vielfach als (Flüssigkeits-)Transfernadeln bezeichnet werden. Sie dienen zur Proben-Reagenzdosierung, zur Entnahme der photometrisch oder mit anderen Methoden zu vermessenden Lösung am Ende der Reaktion sowie zum Waschen der Reaktionsgefäße. Weiterhin sind komplexe Schlauchverbindungen und eine Waschstation erforderlich, in der die Transfernadeln immer wieder gewaschen werden, um eine gegenseitige Beeinflussung der Reaktionen durch übertragene Restmengen der Flüssigkeiten ("Verschleppung") zu verhindern. Zur Durchführung der Bound-Free-Trennung werden Waschnadeln in die Reaktionsgefäße eingeführt, die die Innenseite des Gefäßes intensiv spülen und die Waschflüssigkeit absaugen.

Die Proben und die Reagenzien werden üblicherweise in entsprechenden Gefäßen bereitgehalten. Um sie jeweils zum richtigen Zeitpunkt an der richtigen Stelle zur Verfügung zu haben und in die passenden Reaktionsgefäße zu transferieren befinden sich die Gefäße vielfach auf beweglichen Tablettts oder Rotoren. Die Transfernadeln sind häufig an Schwenkträgern schwenkbar befestigt, damit sie in verschiedene Positionen über den Tablettts bzw. Rotoren mit den Gefäßen gebracht werden können. Infolgedessen sind präzise Antriebe für die einzelnen Rotoren und für die Schwenkvorrichtungen der Transfernadeln erforderlich. Beispiele solcher Geräte sind in der DE-A-34 02 304 und in der EP-A-04 08 804 beschrieben, wobei die letztgenannte Ausführungsform bereits einen in Relation zu früheren Geräten verhältnismäßig einfachen Aufbau hat.

Dieser hohe gerätetechnische Aufwand stellt insbesondere für Anwendungsfälle, bei denen verhältnismäßig kleine Analyseserien selektiv und vollautomatisch durchgeführt werden sollen, eine große Belastung dar. Infolgedessen werden solche kleinen Serien meist manuell durchgeführt. Dies führt nicht nur zu erhöhten Kosten, sondern erhöht auch das Fehlerrisiko.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein einfach aufgebautes und deshalb kostengünstig herstellbares Analysesystem für die vollautomatische und selektive Analyse heterogener immunologischer Bestimmungen zur Verfügung zu stellen.

Dieses Ziel wird erfindungsgemäß mit einem Analysesystem erreicht, bei dem auf einem einzigen horizontalen schrittweise rotierbaren Rotor Aufnahmen (Sitze) sowohl für die Probengefäße, als auch für die Reagenzgefäße und die Reaktionsgefäße vorgesehen sind, deren Transferöffnungen auf einem Kreis um die Rotorachse liegen. Dabei ist am Umfang des Rotors eine Waschstation angeordnet, die eine Bewegungseinrichtung für eine über dem Kreis der Transferöffnungen positionierte Waschnadel aufweist. Außerdem ist am Umfang des Rotors eine Pipettierstation angeordnet, die ein mittels einer Bewegungseinrichtung bewegliches Pipettenspit-

zen-Anschlußrohr aufweist, welches mit Volumenänderungsmitteln (beispielsweise einem Balg oder einer Kolben-Zylindereinrichtung) verbunden ist. Weiterhin weist der Rotor Aufnahmen für Pipettenspitzen auf, die so positioniert sind, daß das Anschlußrohr der Pipettierstation zur automatischen Verbindung mit einer Pipettenspitze auf diese abgesenkt werden kann und es sind Pipettenspitzen-Abnahmemittel vorhanden, um die Verbindung der Pipettenspitzen mit dem Anschlußrohr automatisch zu lösen. Die Positionen der Transferöffnungen der Gefäße und die Bewegungswege der Bewegungseinrichtung (und somit des Pipettenspitzen-Anschlußrohres) der Pipettierstation sind so aufeinander abgestimmt, daß die Transferöffnungen der Gefäße mittels des Rotorantriebs und der Bewegungseinrichtung zum Flüssigkeitstransfer unter die an das Anschlußrohr angeschlossene Pipettenspitze gebracht werden können.

Pipettoren mit auswechselbaren Pipettenspitzen sind für andere Anwendungszwecke gebräuchlich. Die Pipettenspitzen sind üblicherweise Einmalartikel (Disposable). Sie werden in verschiedenen Formen und Größen hergestellt und haben jeweils eine dünne Ansaugöffnung am unteren Ende, eine Anschlußöffnung am oberen Ende und im übrigen ein geschlossenes Volumen.

Solche Pipettenspitzen werden üblicherweise mit Handpipettoren verwendet, die in einem Handgriff manuell oder elektromechanisch veränderbare Volumenänderungsmittel (meist einen in einem Zylinder beweglichen Kolben, gelegentlich auch einen Balg) enthalten. Aus dem Handgriff ragt ein Anschlußrohr heraus, dessen Ende leicht konisch zusammenläuft und auf den Durchmesser der Anschlußöffnung der Pipettenspitzen derartig abgestimmt ist, daß eine aufgesteckte Pipettenspitze in einem elastischen Paßsitz auf dem Anschlußrohr sitzt. Material und Formgebung der Pipettenspitzen sind so gewählt, daß sie sich im Bereich der Anschlußöffnung beim Aufstecken auf das Anschlußrohr geringfügig deformieren.

Derartig kommerziell erhältliche Pipettenspitzen sind auch für die Erfindung verwendbar, wobei vorzugsweise verschiedene Pipettenspitzentypen zum Pipettieren der Proben, zum Pipettieren der Reagenzien und unter Umständen auch für die photometrische, fluorometrische oder luminometrische Messung verwendet werden können. Dabei trägt der Rotor eine Vielzahl von Pipettenspitzen, die nacheinander wahlweise und vollautomatisch auf das Pipettenspitzenanschlußrohr der Pipettierstation aufgesteckt und, nachdem der jeweils erforderliche Flüssigkeitstransfer erfolgt ist, mit Hilfe der Pipettenspitzen-Abnahmeeinrichtung wieder gelöst und in eine der Aufnahmen in dem Rotor oder in eine spezielle Abfallaufnahme abgelegt werden können. Die Erfindung ermöglicht es, mit einem extrem einfach aufgebauten Gerät, welches nur einen Rotor und eine Pipettierstation mit einem einzigen vertikal beweglichen Anschlußrohr aufweist, die kompliziertesten heterogenen immunologischen Analysen durchzuführen. Darüber hinaus ist keine Transfernadel-Waschstation erforderlich. Die Verschleppung von Proben oder Reagenzien ist vollständig ausgeschlossen.

Die Erfindung wird im folgenden anhand von in den Figuren schematisch dargestellten Ausführungsbeispielen näher erläutert; es zeigt

Fig. 1 eine perspektivische Ansicht eines erfindungsgemäßen Analysesystems;

Fig. 2 einen Schnitt durch eine Ausführungsform ei-

ner speziellen Pipettenspitze für eine optische Messung; Fig. 3 eine alternative Ausführungsform eines für die Erfindung geeigneten Gerätes teilweise im Schnitt und teilweise in Seitenansicht.

Das in Fig. 1 dargestellte Analysegerät 1 weist einen horizontalen Rotor 2 auf, der (beispielsweise mit Hilfe eines Schrittschaltmotors) in eine Vielzahl von definierten Drehpositionen gebracht werden kann. Am Umfang des Rotors 2 ist eine Pipettierstation 3 und eine Waschstation 4 angeordnet.

Auf dem Rotor 2 sind Reagenzgefäße 5, Probengefäße 6 und Reaktionsgefäße 7 jeweils so positioniert, daß ihre Flüssigkeitstransferöffnungen 5a, 6a, 7a auf dem gleichen Kreis (Transferkreis) um die Achse 8 des Rotors 2 liegen. Zur Positionierung der Gefäße 5, 6, 7 dienen Aufnahmen 5b, 6b, 7b, welche zweckmäßigerweise durch Vertiefungen bzw. Löcher in der Oberfläche des Rotors gebildet werden, die an die Formgebung des jeweiligen Gefäßes angepaßt sind.

Ebenfalls auf dem gleichen Transferkreis um die Achse 8 des Rotors 2 befinden sich die Anschlußöffnungen 10a, 11a der Probenpipettenspitzen 10 und der Reagenzpipettenspitzen 11. Dabei ist für jedes Probengefäß 6 und für jedes Reagenzgefäß jeweils eine Pipettenspitze 10 bzw. 11 vorgesehen. Beide Pipettenspitzentypen können unterschiedlich geformt und auf den jeweiligen Anwendungszweck angepaßt sein. Beispielsweise hat die Reagenzpipettenspitze 11 im Regelfall ein größeres Volumen als die Probenpipettenspitze 10. Die Anschlußöffnungen 10a und 11a sind jedoch so gestaltet, daß sie wahlweise an das gleiche Anschlußrohr 13 der Pipettierstation 3 angeschlossen werden können.

Die Aufnahmen 10b, 11b für die Pipettenspitzen 10 und 11 werden durch an die Formgebung der Pipettenspitzen angepaßte Vertiefungen oder Löcher in dem Rotor bzw. einem mit dem Rotor 2 drehfest verbundenen Element gebildet. Im dargestellten Fall weisen die Reagenzgefäße 5 Vertiefungen als Aufnahmen 11b für die Pipettenspitzen 11 auf.

Die Reagenzgefäße 5 haben außer der Transferöffnung 5a eine Einfüllöffnung 14. Vorteilhafterweise haben sie eine Einrichtung 15 zur Konstanthaltung des Höhenstandes der Reagenzflüssigkeit, beispielsweise durch Formgebung nach Art eines "Chickenfeeder".

In einer hier nicht dargestellten weiteren Ausführungsform kann der Rotor in mehrere Segmente unterteilt sein, in welche unterschiedliche Rotoreinsätze wahlweise auswechselbar eingesetzt werden können. Jeder der Rotoreinsätze weist jeweils eine oder mehrere Aufnahmen für Proben-, Reaktions- oder Reagenzgefäße auf. Die Rotoreinsätze sitzen dabei drehfest in einem Rotoreinsatzträger, an dem der Rotorantrieb angreift. Der Vorteil der Segmentierung in auswechselbare Rotoreinsätze besteht in der freien Konfigurierbarkeit des Rotors bezüglich der Zahl der Reagenz-, Proben- und Reaktionsgefäße. Außerdem lassen sich die herausnehmbaren Rotoreinsätze einfach reinigen.

Das Pipettenspitzen-Anschlußrohr 13 ist in der Pipettierstation 3 an einem Querarm 16 befestigt, der an einem Vertikalrohr 17 befestigt und vertikal beweglich ist. Der Querarm 16, das Vertikalrohr 17 und der im einzelnen nicht dargestellte elektrische Antrieb für die Vertikalbewegung werden insgesamt als Vertikalbewegungseinrichtung 18 bezeichnet. Einzelheiten müssen hierzu nicht erläutert werden, da derartige Vertikalbewegungseinrichtungen bekannt sind. Die Vertikalbewegungseinrichtung muß im Rahmen der Erfindung so steuerbar sein, daß das Pipettenspitzenanschlußrohr 13

zur automatischen Verbindung mit einer darunter angeordneten Pipettenspitze 10, 11 in deren Anschlußöffnung 10a, 11a abgesenkt werden kann. Im Innern des Querarmes 16 verläuft ein flexibles, aber volumenkonstantes Rohr, das das Pipettenspitzenanschlußrohr 13 mit einer zweckmäßigerweise innerhalb des Vertikalrohres 17 angeordneten Kolbenzylindereinrichtung verbindet, die als Volumenänderungsmittel dient. Durch Bewegung des Kolbens in dem Zylinder kann Flüssigkeit innerhalb einer an das Anschlußrohr 13 angeschlossenen Pipettenspitze 10, 11 angesaugt bzw. aus dieser ausgestoßen werden.

Die Verbindung zwischen einer Pipettenspitze 10, 11 und dem Anschlußrohr 13 läßt sich mit elektromechanischen Pipettenspitzen-Abnahmemitteln 20 automatisch lösen. In der Figur dargestellt ist ein aus dem Querarm 16 hervorspringender Finger 19, der mit einem Vorsprung 19a hinter den oberen Rand einer auf dem Rohr 13 sitzenden Pipette greift und diese nach unten von dem Rohr 13 abstreift. Die entsprechende Bewegung des Fingers 19 läßt sich beispielsweise elektromechanisch oder pneumatisch realisieren.

Die Waschstation 4 weist ebenfalls eine Vertikalbewegungseinrichtung 28 für die Waschnadel 23 auf, die aus einem Querarm 26, einem Vertikalrohr 27 und einem nicht dargestellten Vertikalantrieb besteht. Die Waschnadel 23 ist konventionell ausgebildet und ermöglicht es, das Innere eines Reaktionsgefäßes 7 durch Besprühen der Innenwände und wiederholtes Absaugen der Waschflüssigkeit gründlich zu waschen, wenn sie in eines der Reaktionsgefäße 7 eingetaucht ist.

Bevorzugt läßt sich die Waschnadel 23 mit Hilfe eines nicht dargestellten Schwingungsantriebs in Oszillation versetzen, um eine Flüssigkeit, in die sie eingetaucht ist, zu durchmischen. In diesem Fall muß die Waschnadel gereinigt werden. Dies ist einfach möglich, indem sie in ein auf dem Transferkreis angeordnetes leeres Gefäß abgesenkt wird, welches durch die Waschnadel selbst gefüllt wird. Nach kurzem Oszillieren der Waschnadel wird es wieder leergesaugt. Dieser Vorgang kann gegebenenfalls mehrfach wiederholt werden, um die Verschleppung unter der erforderlichen Grenze zu halten.

Eine optische Meßstation 30 dient zur photometrischen, fluorometrischen oder luminometrischen Auswertung einer durch die Analysereaktion verursachten optisch meßbaren Änderung. Sie ist ebenfalls am Umfang des Rotors 2 angeordnet und besteht im dargestellten Fall einer photometrischen Messung aus einem in der Figur nicht erkennbaren unter dem Rotor 2 positionierten Lichtsender und dem Empfänger 31 auf der Außenseite des Rotors 2. Der photometrische Lichtstrahl 2 verläuft so, daß ein Reaktionsgefäß 7, welches sich in der durch den Pfeil 32 bezeichneten Meßposition befindet, durchstrahlt wird. Bei der dargestellten Ausführungsform wird deshalb die Meßgröße unmittelbar an der in den Reaktionsgefäßen 7 enthaltenen Flüssigkeit bestimmt.

Der Rotor 2 und die Stationen 3, 4, 30 sind in üblicher Weise auf einem Gerätechassis 34 montiert, das in einem Gehäuse 35 die erforderlichen Antriebe, die Elektronik, ein Netzteil und die üblichen Komponenten für die Steuerung und die Ergebnisausgabe enthält. Dargestellt sind der Einfachheit halber lediglich eine Tastatur 36a, 36b und Anschlüsse 37a, 37b und 37c für Peripheriegeräte, wie beispielsweise einen Drucker, ein Display zur Ausgabe der Meßwerte und dergleichen. Eine Gerätehaube 38 schützt das Gerät vor Umwelteinflüssen und erleichtert die Temperierung.

Die Reaktionsgefäße 7 sind bevorzugt coated tubes, die innenseitig mit einem trägerfixierten Bindungspartner, beispielsweise einem Antikörper oder Streptavidin beschichtet sind. Das Rotorsegment, welches die Reaktionsgefäße 7 enthält, ist mittels Peltier-Elementen temperierbar.

Zur Durchführung einer Analyse wird zunächst der Rotor mit den Probengefäßen 6, die die zu analysierenden Proben enthalten, den Probeneinmalspitzen 10, den Reagenzgefäßen 5 mit den erforderlichen flüssigen Reagenzien, den Reagenzeinmalspitzen 11 und den Reaktionsgefäßen 7 bestückt.

Für jede Probendosierung wird der Rotor 2 in eine Drehposition gebracht, bei der sich das Anschlußrohr 13 genau über einer Probenpipettenspitze 10 befindet. Das Rohr 13 wird in die Anschlußöffnung 10a abgesenkt, um Pipettenspitze 10 und Rohr 13 miteinander zu verbinden. Danach bewegt die Vertikalbewegungseinrichtung 18 das Rohr 13 mit der Pipettenspitze 10 nach oben und der Rotor 2 wird in eine Position gebracht, in der sich das Probengefäß 6 mit der gewünschten Probe unter der Pipettenspitze befindet. Die Pipettenspitze wird in das Probengefäß 6 abgesenkt, Probe angesaugt und die Pipettenspitze wird wieder herausgezogen. Der Rotor 2 wird in eine Drehposition gebracht, in der ein Reaktionsgefäß 7 unter dem Rohr 13 ist und die Probenflüssigkeit wird zweckmäßigerweise nach Absenken in den Bereich der Transferöffnung 7a in das Reagenzgefäß 7 ausgestoßen. Schließlich wird die gleiche Aufnahme 10b, aus der die Probenpipettenspitze 10 entnommen wurde, wieder unter das Rohr 13 gedreht. Die Pipettenspitze wird in die Aufnahme 10b abgesenkt und mittels der Pipettenspitzen-Abnahmemittel von dem Rohr 13 abgestreift.

Als nächstes ist die Zugabe eines flüssigen Reagenz, also die Reagenzdosierung erforderlich. Sie verläuft analog wie die Probendosierung, wobei selbstverständlich eine Reagenzpipettenspitze unter das Pipettenspitzenanschlußrohr 13 gebracht, mit diesem verbunden, in die Transferöffnung 5a des entsprechenden Reagenzgefäßes 5 abgesenkt und das Reagenz angesaugt wird. Nach dem Ausstoßen des Reagenzes in das entsprechende Reaktionsgefäß 7 wird die Reagenzpipettenspitze 11a wieder in die Aufnahme 11b, aus der sie entnommen wurde, zurückgestellt.

Danach erfolgt die Inkubation, die für die erste Reaktionsstufe erforderlich ist. Im Falle eines Zwei-Schritt-Sandwich-Testes, wie er in der EP-A-04 08 804 beschrieben ist, kann dies beispielsweise die spezifische Bindungsreaktion zwischen einem in der Probe enthaltenen zu bestimmenden Antigen Ag und einem an das Reaktionsgefäß 7 fixierten Antikörper Akb zur Bildung eines trägerfixierten Komplexes Akb-Ag sein. Als flüssiges Reagenz wird in diesem Fall lediglich eine Pufferlösung zudosiert. Während der Dauer der heterogenen Reaktionen können zweckmäßigerweise Dosierschritte, die für andere Analysen erforderlich sind, durchgeführt werden.

Nach Ablauf der erforderlichen Inkubationszeit wird das Reaktionsgefäß 7 unter die Waschnadel 23 gedreht, diese bis in den Bodenbereich des Reaktionsgefäßes 7 abgesenkt, die darin befindliche Reaktionslösung abgesaugt und in üblicher Weise das Reaktionsgefäß 7 gewaschen.

Nach dem Waschen kann eine zweite Reagenzdosierung erfolgen, die genau analog der ersten Reagenzdosierung, jedoch mit einem anderen Reagenz aus einem anderen Reagenzgefäß 5, abläuft. Da dabei eine andere

Reagenzpipettenspitze 11a verwendet wird, besteht keinerlei Risiko, daß ein Reagenz in ein anderes verschleppt wird. Im Beispielsfall kann als zweites Reagenz ein Konjugat eines für das Antigen spezifischen Antikörpers mit einem Markierungsenzym (AkE) zudosiert werden.

Bei der zweiten Inkubation bildet sich ein Sandwich-Komplex Akb-Ag-AkE, der an der Gefäßwand gebunden ist. Nach erneutem Absaugen und Waschen zur Entfernung von überschüssigem AkE von dem festphasengeordneten Sandwich-Komplex (Bound-Free-Trennung) wird ein farbbildendes Substrat als drittes Reagenz aus dem dritten Reagenzgefäß 5 zugeführt. Sein Farbumschlag ist für die Konzentration des Markierungsenzyms E und somit für die Konzentration des Analyt-Antigens Ag charakteristisch. Vor der Photometrierung kann eine Durchmischung mit Hilfe der schwingenden Waschnadel 23 erfolgen. Danach wird das Reaktionsgefäß 7 in die Meßposition 32 gebracht und der Farbumschlag photometrisch vermessen.

Einzelheiten der jeweiligen Analysereaktion sind für die Erfindung nicht wesentlich. Charakteristisch ist vielmehr der einfache Aufbau des Gerätes, der dennoch sehr flexibel die vollautomatische Durchführung unterschiedlichster mehrstufiger Analyseverfahren erlaubt. Dabei sind folgende Punkte hervorzuheben:

- Da für jede Probe und jedes Reagenz eine gesonderte Pipettenspitze verwendet wird, sind Analyseverfälschungen durch Verschleppung beim Proben- oder Reagenztransfer vollständig ausgeschlossen.

- Durch Verwendung spezieller Pipetten für unterschiedliche Aufgaben kann das jeweilige Dosier-volumen flexibel angepaßt werden. So können beispielsweise auch für verschiedene Reagenzien verschiedene Typen von Pipettenspitzen verwendet werden.

- Bei der dargestellten bevorzugten Ausführungsform, bei der die Transferöffnungen 5a der Reagenzgefäße 5, die Transferöffnungen 6a der Probengefäße 6 und die Transferöffnungen 7a der Reaktionsgefäße 7 sowie die Anschlußöffnungen 10a, 10b der verschiedenen Pipettenspitzen 10, 11 auf dem gleichen Kreis (Transferkreis) um die Rotorachse 8 liegen, sind lediglich drei Antriebe, nämlich der Drehantrieb für den Motor und zwei Vertikal-antriebe für die Pipettierstation 3 und die Waschstation 4, erforderlich.

- Die Ansteuerung des Rotors 2 und der Stationen 3, 4 erfolgt programmgesteuert mit Hilfe eines Mikroprozessors. Das Programm läßt sich leicht auf die Anforderungen verschiedenster Analysen einstellen. Außerdem ist es möglich, die Schrittfolge so zu optimieren, daß während der Inkubationszeit jeweils Dosierungen an anderen Reaktionsgefäßen 7 durchgeführt werden.

Obwohl die dargestellte Anordnung mit einem einzigen Transferkreis besonders einfach ist, kann es für etwas größere Analysezahlen zweckmäßig sein, beispielsweise die Pipettenspitzen auf einem gesonderten Kreis anzuordnen. In diesem Fall ist selbstverständlich eine Horizontalbewegung des Pipettenspitzenanschlußrohrs 13 erforderlich.

Die Meßstation 30 kann grundsätzlich in konventioneller Weise mit einer Absaugnadel versehen sein, die ähnlich der Waschnadel 23 in die Reaktionsgefäße ein-

taucht und die zu analysierende Flüssigkeit z. B. durch eine Durchflußküvette absaugt, wenn die physikalisch nachweisbare Veränderung der Analyseflüssigkeit am Ende der Reaktion gemessen werden soll. Da eine solche Absaugnadel jedoch in verschiedene Reaktionsgefäße mit unterschiedlichen Reaktionslösungen eintauchen müßte, wäre eine Waschstation für die Absaugnadel erforderlich.

Um den hiermit verbundenen konstruktiven Aufwand zu vermeiden, wird vorzugsweise eine Meßstation verwendet, die ohne eine Absaugnadel auskommt. Ein erstes Beispiel ist die in Fig. 1 gezeigte Photometrie-Meßstation 30, bei der der Lichtstrahl des Photometers die Reaktionsgefäße unmittelbar durchdringt.

Eine Alternative hierzu ist in Fig. 2 stark schematisiert dargestellt. Es handelt sich um eine spezielle Meßpipettenspitze 41, die alternativ zu den Probenpipettenspitzen 10 und den Reagenzpipettenspitzen 11 mit dem Pipettenspitzenanschlußrohr 13 verbunden werden kann. Sie hat einen Küvettenbereich 42, der gute optische Eigenschaften für die photometrische Messung aufweist. In der Figur ist der Lichtstrahl 43 eines Photometers angedeutet, der von einem Lichtsender 44 ausgeht und auf einen Meßempfänger 45 trifft.

Ein Vorteil dieser Alternative ist darin zu sehen, daß die Meßpipettenspitze in Material und Formgebung spezifisch auf die Meßaufgaben ausgerichtet sein kann, während die Reaktionsgefäße primär zur Durchführung der Reaktionen dienen und eine Bindungspartner-Beschichtung auf der Wand tragen, so daß sie sich vielfach weniger gut als optische Meßgefäße eignen.

Fig. 3 zeigt eine weitere Ausführungsform der Erfindung, bei der eine Einfüllöffnung 48 der Meßstation 30 auf dem Kreis der Transferöffnungen (5a bis 7a in Fig. 1) liegt, so daß sie ohne zusätzliche Horizontalbewegung von der Pipettierstation 18 erreicht werden kann. Für diese Dosierung werden zweckmäßig zusätzliche Pipettenspitzen verwendet, die als Meßtransferpipettenspitzen 49 bezeichnet werden. Die Pipettierung erfolgt in diesem Fall zweckmäßigerweise durch eine Öffnung 50 in dem Rotor 2. Selbstverständlich weist der Rotor in diesem Fall nicht dargestellte Aufnahmen für die Pipettenspitzen 49 auf.

Für die Meßeinrichtung 30 wird in diesem Fall bevorzugt eine Durchflußküvette 51 verwendet, wobei der andeutungsweise dargestellte photometrische Strahlengang 52 vorzugsweise im unteren Bereich der Küvette verläuft, um Störungen durch Luftblasen zu vermeiden. Nach der Photometrierung wird die Analyseflüssigkeit über das Rohr 53 nach Öffnen des Ventils 54 abgesaugt.

Patentansprüche

1. Analysesystem zur automatischen Durchführung von Analysen, die eine spezifische Bindungsreaktion unter Beteiligung eines in einem Reaktionsgefäß trägerfixierten Bindungspartners und einen Waschschrift zur Durchführung einer Bound-Free-Trennung umfassen, mit Probengefäßen (6) zum Bereithalten der zu analysierenden Proben, Reagenzgefäßen (5) zum Bereithalten der Reagenzien und Reaktionsgefäßen (7), die den trägerfixierten Bindungspartner enthalten, welche jeweils Transferöffnungen (5a, 6a, 7a) zum Entnehmen bzw. zum Zuführen von Flüssigkeiten während der Analyse aufweisen, und mit einer Meßstation (30) zur Messung einer für die Analyse charakteristischen Meßgröße,

bei welchem

Aufnahmen (5b, 6b, 7b) für die Probengefäße (6), die Reagenzgefäße (5) und die Reaktionsgefäße (7) auf einem einzigen Rotor (2) vorgesehen sind, am Umfang des Rotors eine Waschstation (4) angeordnet ist, die eine Bewegungseinrichtung (28) für eine Waschnadel (23) aufweist, am Umfang des Rotors (2) eine Pipettierstation (3) angeordnet ist, die eine Bewegungseinrichtung (18) für ein Pipettenspitzen-Anschlußrohr (13) aufweist, welches mit Volumenänderungsmitteln verbunden ist, der Rotor (2) Aufnahmen (10b, 11b) für Pipettenspitzen (10, 11) aufweist, die Positionen der Aufnahmen (10b, 11b) für die Pipettenspitzen (10, 11) auf dem Rotor (2), die Positionen der Transferöffnungen (5a, 6a, 7a) der Gefäße (5, 6, 7) und die Bewegungswege der Bewegungseinrichtung (18) der Pipettierstation (3) so aufeinander abgestimmt sind, daß das Anschlußrohr (13) der Pipettierstation (3) zur automatischen Verbindung mit einer Pipettenspitze (10, 11) auf diese abgesenkt werden kann und die Transferöffnungen (5a, 6a, 7a) der Gefäße (5, 6, 7) zum Flüssigkeitstransfer unter die mit dem Anschlußrohr (13) verbundene Pipettenspitze (10, 11) bewegt werden können, und Pipettenspitzenabnahmemittel (20) vorhanden sind, um die Verbindung der Pipettenspitze (10, 11) mit dem Anschlußrohr (13) automatisch zu lösen.

2. Analysesystem nach Anspruch 1, bei welchem die Transferöffnungen (5a, 6a, 7a) der Probengefäße (6) der Reagenzgefäße (5) und der Reaktionsgefäße (7) und die Aufnahmen (10b, 11b) für die Pipettenspitzen auf dem gleichen Kreis um die Achse (8) des Rotors (2) liegen und die Bewegungseinrichtungen (18, 28) der Pipettierstation (3) und der Waschstation (4) Vertikalbewegungseinrichtungen sind.

3. Analysesystem nach einem der Ansprüche 1 oder 2, bei welchem verschiedene Pipettenspitzen (10a, 11a) wahlweise mit dem Anschlußrohr (13) der Pipettierstation (3) verbindbar sind.

4. Analysesystem nach Anspruch 3, bei welchem zur Bestimmung der Meßgröße spezielle Meßpipettenspitzen (41) vorgesehen sind.

5. Analysesystem nach einem der Ansprüche 2 oder 3, bei welchem die Meßstation (3') eine Einfüllöffnung (48) aufweist, die auf dem Kreis der Transferöffnungen liegt, so daß die Reaktionslösung mittels der Pipettenspitzen (49) aus den Reaktionsgefäßen (7) in die Meßstation (31) transferiert werden kann.

6. Analysesystem nach Anspruch 5, bei welchem die Einfüllöffnung (48) mit einem Durchflußmeßgefäß (51) verbunden ist.

7. Analysesystem nach Anspruch 1, bei welchem die Meßstation (30) am Umfang des Rotors (2) angeordnet ist, und die Meßgröße unmittelbar an der in den Reaktionsgefäßen (7) enthaltenen Flüssigkeit gemessen wird.

8. Analysesystem nach Anspruch 1, bei welchem die Reagenzgefäße (5) eine Regulierungsvorrichtung (15) zur Konstanthaltung des Höhenstandes der Reagenzflüssigkeit aufweisen.

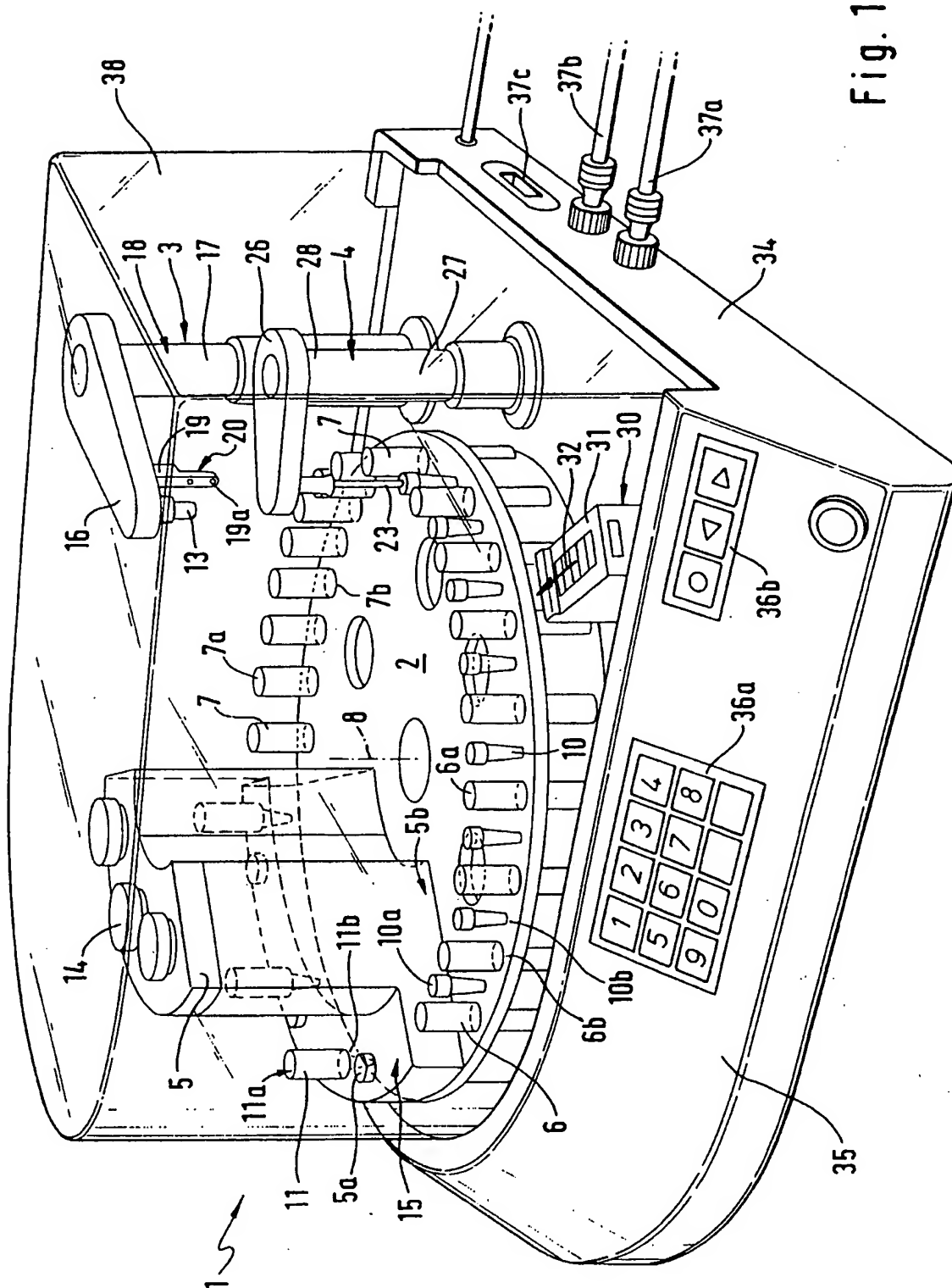


Fig. 1

Fig. 2

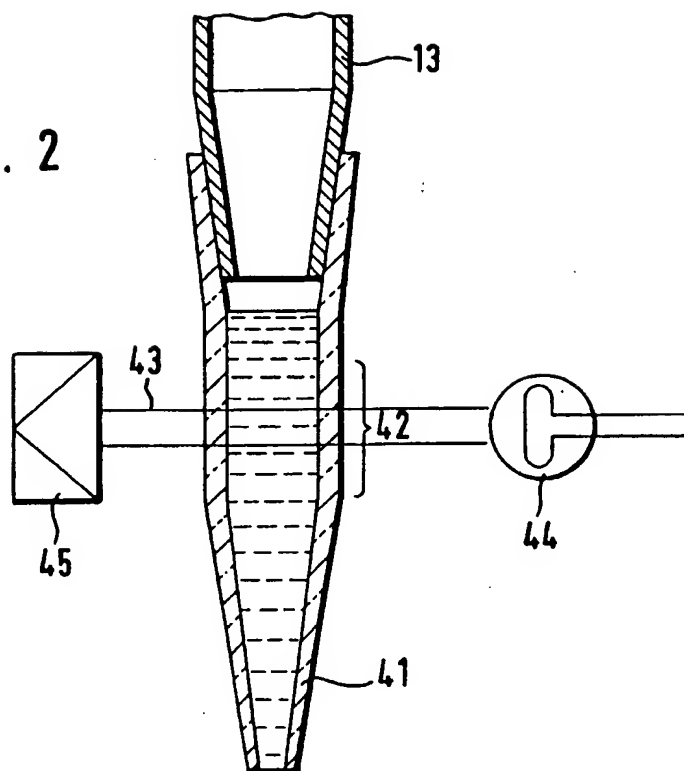


Fig. 3

